



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN VIRUS DE LA ESTOMATITIS VESICULAR MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/14)

Título del ensayo

Estudio de fase I abierto, de aumento progresivo de la dosis y de ampliación para evaluar la seguridad y la eficacia de VSV-GP-CD80Fc en pacientes con tumores sólidos avanzados, del promotor Boehringer Ingelheim España, S.A.

Características del ensayo

La administración del OMG se realiza por vía intravenosa (i.v.) utilizando una bomba de jeringuilla durante un período de aproximadamente 60 minutos. El ensayo consiste en una parte 1, en la que se probará en varias dosis y una parte 2, para explorar más a fondo la seguridad, así como la eficacia inicial en tipos de tumores definidos.

En el ensayo participarán el Hospital 12 de Octubre, el Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, el Hospital Quironsalud Barcelona y el Instituto Valenciano de Oncología.

Organismo modificado genéticamente (OMG)

El OMG, VSV-GP-CD80Fc (BI 1821736), es un virus de la estomatitis vesicular (VSV) quimérico y recombinante, replicativo, portador de la glucoproteína de envoltura (GP) de la cepa WE-HPI no neurotrópica y visceral del virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) en lugar de su glucoproteína natural (G). Además, se inserta un ácido nucleico sintético que codifica el gen CD80Fc humano entre la glucoproteína GP y la polimerasa L viral. La transcripción del gen CD80Fc en el contexto de la infección viral está asegurada por una secuencia de señal de inicio de VSV adicional en el extremo 3' y por una secuencia de señal de parada adicional en el extremo 5' del marco de lectura abierto de CD80Fc. La molécula CD80Fc se insertó en el genoma de VSV-GP para respaldar el concepto de activación de células inmunitarias residentes en el cáncer. El CD80Fc se compone de la molécula CD80 que se fusiona con una molécula Fc para prolongar la estabilidad de la molécula en el suero y se beneficia de la prolongación de la semivida mediada por Fc que se observa típicamente para los anticuerpos residentes en el suero. Con CD80Fc se busca la mejora de la activación/maduración de los linfocitos T contra antígenos tumorales que se considera como el sello distintivo de una habilitación de la eliminación de células cancerosas mediada por células inmunitarias que forma parte del restablecimiento de un mecanismo de vigilancia inmunitaria del cáncer). La expresión de la molécula CD80Fc humana cesa si la célula muere debido a la replicación del virus en el interior de la célula infectada o la célula infectada por el virus es eliminada por la respuesta inmunitaria del huésped. Por lo tanto, la proteína CD80Fc codificada por el genoma del virus solo se expresa de manera transitoria en las células infectadas hasta que mueren.

El VSV-GP-CD80Fc se obtuvo transfectando células HEK293F con un plásmido que codifica el genoma completo de VSV-GP-CD80Fc y plásmidos ayudantes auxiliares que codifican las proteínas N, P y L del VSV.

Organismo receptor

El virus de la estomatitis vesicular (VSV) es un virus de ARN monocatenario negativo (ARNmc(-)). El genoma del VSV consta de cinco proteínas principales: nucleocápside o ribonucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M), glucoproteína (G) y proteína grande o polimerasa (L). La



proteína G forma espículas en la envoltura y media en el reconocimiento y la fusión celular, lo que permite la entrada del virus. La proteína M participa en el ensamblaje viral y la gemación de partículas, así como en la prevención de la respuesta inmunitaria innata de la célula huésped. La proteína N interviene en el entorno del núcleo resistente a la ARNasa al respaldar el ensamblaje del genoma viral en el núcleo de la nucleocápside y regular el cambio de la síntesis del ARNm a la replicación del genoma. Las proteínas P y L se combinan para catalizar la reacción del ARN polimerasa dependiente de ARN para producir el molde de cadena positiva, el ARN genómico y facilitar la transcripción de los ARNm en el orden secuencial de N-P-M-G-L.

Evaluación del riesgo

-Estabilidad genética

Los datos de estabilidad genética se obtuvieron mediante secuenciación de Sanger y secuenciación de última generación (NGS). La NGS detectó una variante de secuencia con un intercambio de pares de bases, lo que se traduce en un intercambio de aminoácidos. El porcentaje de esta variante en todos los lotes es constante. Los estudios de caracterización *in vitro* demuestran que el fármaco tiene una actividad oncolítica y un tropismo, comparables al de la variante sin intercambio de pares de bases.

-Patogenicidad

Los huéspedes naturales del VSV son principalmente el ganado bovino, los caballos y los cerdos domésticos, y raramente las ovejas, las cabras y los camélidos. Tanto en condiciones de laboratorio como de campo, se ha demostrado que la infección por VSV es posible en otras especies animales, como roedores y conejos. En general, debido a la glucoproteína del VSV, el tropismo del virus es amplio y se han notificado propiedades neurotrópicas de los VSV recombinantes en roedores y primates no humanos. Este pantropismo se debe a la expresión generalizada del receptor que sirve como principal puerto de entrada celular para el VSV.

El VSV es un virus transmitido por artrópodos y la transmisión entre huéspedes naturales se produce a través de la picadura de flebótomos. La transmisión entre un huésped infectado y otro no infectado también puede ocurrir a través del contacto directo con una lesión activa que contiene una alta concentración de virus infeccioso, pero es poco probable que esto resulte en una diseminación generalizada. En cuanto a la persistencia del virus en la naturaleza, se ha demostrado que se producen anticuerpos neutralizantes del virus no solo en el ganado doméstico sino también en muchas especies de animales salvajes. Sin embargo, aún no está claro cuál es el reservorio huésped natural definitivo, y tampoco se han determinado los ciclos de transmisión entre los vectores y la vida silvestre.

Se considera que el VSV tiene una patogenicidad limitada en humanos. Se ha informado que los humanos que viven en áreas enzoóticas tienen una alta tasa de seroprevalencia y de que el contacto íntimo con animales infectados puede conducir a la infección de humanos, con síntomas similares a los de la gripe. Se cree que la transmisión a humanos se produce a través del contacto directo con lesiones activas o saliva que contiene VSV infeccioso. No se ha notificado que los seres humanos transmitan la infección a otros seres humanos o a los animales, aunque es probable que se produzca la transmisión a través de equipos, manos, guantes y ropa contaminados. Los veterinarios, los técnicos en sanidad animal, los cuidadores de ganado, el personal de laboratorio y otras personas que trabajan en contacto con animales infectados o con virus vivos corren un mayor riesgo. Sin embargo, la mayoría de las personas seropositivas no han tenido la enfermedad clínica o han tenido síntomas



mucho menos graves de la enfermedad (por lo general, una enfermedad leve similar a la gripe). Hasta la fecha, no se ha hecho ninguna referencia a la presencia de VSV en Europa.

Dado que la replicación de los rabdovirus, incluido el VSV, se produce en el citoplasma y no incluye un paso de síntesis de ADN, existe un riesgo insignificante de integración en el genoma de los animales infectados. Además, dado que el VSV tiene un genoma monocatenario y siempre forma una estructura de nucleocápside, la recombinación con otros virus es muy poco probable y la posibilidad de riesgo asociada a la integración cromosómica, la recombinación y los reordenamientos, así como el establecimiento de persistencia, latencia o reactivación es extremadamente baja.

La glucoproteína del VSV es un determinante crítico del tropismo del VSV y se sabe que media en la infección de una amplia variedad de tipos de células eucariotas de una amplia gama de especies huésped. El pantropismo del VSV se debe a la expresión generalizada del receptor de LDL, que sirve como el principal puerto de entrada celular para el virus. La glucoproteína G del VSV permite que el virus entre en las neuronas, donde la falta de respuesta al interferón da lugar a una replicación descontrolada del virus y a neurotoxicidad.

La glucoproteína WE HPI del LCMV (GP) se eligió para reemplazar la proteína G del VSV dado que se había descrito que no permitía la entrada a las neuronas. Posteriormente se demostró experimentalmente que el intercambio provoca la anulación de la neurotoxicidad (ratones CD-1 y BALB/c que son modelos altamente sensibles de neurotoxicidad).

Sobre la base de la función conocida de CD80Fc, no se espera que el transgén CD80Fc aumente la infectividad, transmisión o distribución de VSV-GP.

-Biodistribución

Se dispone de los datos de los estudios preclínicos de biodistribución y excreción de VSV-GP.

Los estudios de biodistribución y la excreción de VSV-GP en ratones portadores de tumores después de una sola dosis i.v. + i.t. demostraron la presencia de material genómico cercano o por debajo del límite inferior de cuantificación en la mayoría de los tejidos 61 días después de la administración. Este material no era infeccioso. La excreción de material genómico a través de los hisopos buconasales, la orina y las heces, fue detectable en la mayoría de las muestras recolectadas a las dos horas (solo hisopos) y algunas muestras 24 horas después de la administración, pero fue negativo a las 72 horas. Los hisopos del punto de inyección del tumor contenían material infeccioso. Ninguna muestra de orina o heces, ni ningún hisopado buconasal contenía material infeccioso.

En los estudios de excreción de VSV-GP en ratones inmunocompetentes e inmunodeprimidos portadores de tumores, tras una única administración i.t. de dos dosis, no se detectó ningún VSV-GP vivo replicado en las muestras de excreción (heces, orina e hisopos nasales/anales/del punto de inyección) obtenidas de los grupos en ningún momento. También se comprobó la transmisión del VSV-GP de los ratones portadores de tumores a los ratones sanos de la jaula tras la administración de una única dosis i.t. y no se observó confirmándose la ausencia de excreción.

En los estudios de biodistribución y excreción de VSV-GP en conejos sanos, a los que se administró una sola dosis i.v., no se detectó en ningún momento virus replicativo vivo en muestras de excreción (hisopo nasal, saliva, heces), ni en los órganos (bazo, corazón, riñón, cerebro, pulmón, hígado y gónadas) 7 días después del tratamiento.



Tampoco se detectó material replicativo vivo en muestras de excrementos (heces, orina, hisopos nasales/orales/del punto de inyección) ni en la sangre, en estudios en *beagles* sanos después de dosis i.v. repetidas.

VSV se ha utilizado como virus parental para otros vectores clínicos: VSV-EBOV (Ervebo) y VSV-IFN β -NIS. Ervebo es un virus VSV Indiana recombinante que expresa la glucoproteína del Ebolavirus y que ha sido aprobado recientemente por la EMA y la FDA. De acuerdo con la excreción limitada en adultos, los resultados de un estudio de toxicidad en primates no humanos y la ausencia de transmisión horizontal en cerdos, el riesgo general de Ervebo para la salud humana y el medio ambiente se considera insignificante. El VSV-IFN β -NIS es un VSV oncolítico recombinante diseñado para expresar interferón-beta (IFN β) y el simportador de yoduro de sodio (NIS), y actualmente se está evaluando en ensayos clínicos sobre diversos tumores. Recientemente se ha demostrado que este virus oncolítico VSV es seguro para los cuidadores, sin excreción viral, incluso con una mayor duración de la infusión. No se detectó excreción de virus infeccioso en excrementos biológicos de cerdos inoculados o cerdos no expuestos que se mantuvieron en contacto directo durante todo el experimento.

Se dispone también de datos de la biodistribución y la excreción de VSV-GP-CD80Fc en ratones portadores de tumores después de una sola dosis i.v. + i.t. Para analizar la excreción se recogieron hisopados buconasales y del punto de inyección a distintos intervalos después de la administración. Se detectó material genómico en hisopados tumorales 2 horas después de la administración. Los niveles de ARN disminuyeron a las 24 horas después de la administración y luego aumentaron ligeramente a las 72 horas después de la administración, pero por debajo del límite inferior de cuantificación.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

La preparación de la dosis se realizará en cabina de seguridad biológica de clase II. Se utilizará bata, guantes y mascarillas de un solo uso (se recomiendan N95/FFP2). Se debe usar protección para los ojos cuando exista un riesgo conocido o potencial de exposición a salpicaduras.

Al salir de la sala, el personal debe quitarse todo el equipo de protección y desecharlo adecuadamente dentro de la habitación privada del paciente o en la farmacia hospitalaria. El transporte interno del OMG se realizará en contenedores cerrados y resistentes a derrames accidentales.

Después del alta del paciente, las superficies potencialmente contaminadas (por ejemplo, el equipo de baño: grifo, inodoro, lavabo, etc.), los muebles de la habitación (mesita de noche, mesa, silla, suelo, pasamanos, etc.) deben desinfectarse siguiendo los procedimientos de limpieza de los centros hospitalarios. La ropa de cama, toallas, pijamas, etc., se gestionarán dependiendo de si son considerados residuos o no. Cualquier residuo que haya estado en contacto con el OMG se eliminará como residuos biológicos o del grupo III. Si no se considera que el material a eliminar sea transmisor de contagio, no se considerará residuos y se limpiará por procesos industriales.

Los viales usados, los equipos que contengan trazas del medicamento y el resto de residuos se eliminarán como residuos biológicos o del grupo III de acuerdo con los procedimientos del centro hospitalario.

Las muestras recogidas de los pacientes deben ser manipuladas teniendo en cuenta las medidas de bioseguridad para BSL-2, el transporte interno se realizará en contenedores cerrados y resistentes a derrames accidentales.

Para evitar la diseminación del OMG los pacientes serán informados de las pautas que deben seguir durante su estancia en el centro hospitalario y una vez que sea dado de alta.



En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 13 de julio de 2023